

VI CONGRESO IBÉRICO de AgroIngeniería

5 a 7 de Septiembre | 2011
Universidade de Évora | Portugal



La imagen hiperespectral como herramienta de evaluación de la calidad de hortaliza de hoja mínimamente procesada

Belén Diezma¹, Lourdes Lleó¹, Ana Herrero¹, Loredana Lunadei¹, Jean Michel Roger²,
Margarita Ruiz-Altisent¹

¹ LPF_TAGRALIA. Dpto. Ingeniería Rural. UPM. ETSI Agrónomos de Madrid, España. E-mail: belen.diezma@upm.es

² UMR. ITAP. CEMAGREF. Montpellier. Francia.

Resumen

En el presente trabajo se explora la técnica de imagen hiperespectral en el ámbito de las hortalizas de hoja mínimamente procesadas para la determinación de atributos de calidad ligados a la evolución durante su almacenamiento y manejo. Se ha implementado un equipo de visión hiperespectral VIS-NIR (400 – 1000 nm) para la adquisición de imágenes de hojas de espinacas. Las muestras han sido sometidas a diferentes periodos de almacenamiento para generar suficiente variabilidad en estados de calidad. Se ha seleccionado una población de calibración de espectros sobre las imágenes considerando tres categorías de calidad. Sobre dicha población de calibración se ha aplicado la técnica de análisis multivariante PLS-DA. El error del modelo de clasificación en la calibración ha sido del 7%. La proyección de las imágenes hiperespectrales en el espacio discriminante generado y la asignación de cada píxel a una de las categorías en función de dicha proyección, han permitido identificar en las hojas regiones con diferentes estados de evolución.

Abstract

In this paper hyperspectral imaging technique is explored for the determination of quality attributes related to the evolution during storage and handling in the field of minimally processed leafy vegetables. We have implemented a computer vision hyperspectral VIS-NIR (400 - 1000 nm) for the acquisition of images of leaves of spinach. Samples were subjected to different storage periods to generate sufficient variability in quality stages. It has been selected a calibration set of spectra on the images by considering three categories of quality. On this calibration set the multivariate PLS-DA has been performed. The classification error in calibration was 7%. The projection of hyperspectral images on the discriminant space generated and the assignation of each pixel to one of the categories, have allowed the identification of regions in the leaves with different stages of evolution.

Palabras Clave: análisis multivariante, espinacas, cuarta gama, sistemas de visión.

1. INTRODUCCIÓN

La producción y comercialización de los productos hortofrutícolas mínimamente procesados en fresco (MPF) es un sector emergente de la industria agrícola en la actualidad, al satisfacer las demandas de los consumidores en cuanto a calidad homogénea, requerimientos nutricionales, comodidad y rapidez de preparación para el consumo (Artés et al., 2009). Sin embargo, es necesario considerar que mientras el resto de las técnicas de procesamiento de productos agroalimentarios alarga su vida útil, el mínimo procesado convierte a frutas y hortalizas en productos altamente perecederos. Este hecho ha promovido numerosas investigaciones para el desarrollo de tratamientos que alarguen su vida útil. Las principales técnicas de preservación aplicadas a estos productos son el almacenamiento en frío y el envasado en atmósferas modificadas, combinadas con tratamientos químicos (soluciones antimicrobianas, antioxidantes, etc.), y la aplicación de tratamientos de vapor o agua caliente

(Rico et al., 2007). Sin embargo, algunas desventajas y limitaciones de estos tratamientos obligan a la búsqueda de nuevas técnicas como la radiación UV-C, tratamientos de O₃, las atmósferas sobreoxigenadas, la utilización de envases con diferentes permeabilidades al O₂ y al CO₂ o la aplicación de agentes antioxidantes alternativos (Aguayo et al., 2010; Allende et al., 2006; Del Nobile et al., 2008; Escalona et al., 2010; Fan and Sokorai, 2005). La generalización de estos métodos requiere la evaluación de la seguridad y la calidad organoléptica de los productos obtenidos. Hasta el momento, esto se ha llevado a cabo fundamentalmente mediante evaluaciones sensoriales y conteos microbiológicos (Abbott et al., 2004), técnicas exigentes en tiempo y recursos. Consecuentemente, el sector precisa de técnicas baratas, rápidas y objetivas para evaluar la calidad general y la seguridad (o alguno de sus parámetros específicos) de los productos mínimamente procesados, que constituyan una herramienta de ayuda a la decisión en la implementación de nuevos procedimientos de envasado y/o tratamientos (Siripatrawan, 2008).

Durante los últimos años las técnicas de imagen hiperespectral se han explorado en el ámbito de la inspección de productos agroalimentarios, examinando su potencial como herramienta de inspección (detección de contaminantes, identificación de defectos, estimación de la composición analítica, determinación de atributos de calidad...). La visión hiperespectral genera mapas espaciales de la variación espectral de la muestra conocidos como datacubos o hipercubos, ya que se obtienen bases de datos tridimensionales que contienen las dos dimensiones espaciales y la dimensión espectral, esto es, un espectro para cada píxel. Las principales ventajas de la imagen hiperespectral sobre los métodos tradicionales son que requiere una preparación de la muestra mínima, que es no destructiva y relativamente rápida, y que permite la visualización simultánea de la distribución espacial de diferentes parámetros de calidad y/o componentes químicos (ElMasry et al., 2010). Uno de los principales retos de la visión hiperespectral es el manejo y análisis de esas grandes y complejas bases de datos para la extracción de la información relevante contenida en ellas (Fernández Pierna et al., 2010). El punto de partida para ello lo constituyen los métodos de pre-procesado de espectros (normalización, suavizado, centrado, diferenciación, etc.) y análisis multivariante (técnicas de correlación, análisis de componentes principales, análisis discriminantes, etc.) aplicados tradicionalmente a la espectroscopia (Gowen et al., 2007); en el caso de la visión hiperespectral estos procedimientos pueden aplicarse a toda la imagen o a sub-poblaciones de píxeles representativos de la variabilidad de las muestras.

En espectroscopia, con el fin de crear modelos de calibración, se busca una relación, generalmente lineal, entre las variables espectrales y las de referencia (las respuestas). Sin embargo, en estos procesos de calibración surgen dos problemas matemáticos: el primero, relacionado con el dimensionamiento, se debe al hecho de que el conjunto de calibración generalmente contiene más variables (longitudes de onda) que los individuos (espectros); el segundo se debe a la enorme correlación entre las variables espectrales. En imagen hiperespectral el primer problema se obvia al disponer de miles de espectros. En los casos de respuestas cuantitativas, este problema es generalmente resuelto por métodos factoriales, como la regresión de componentes principales (PCR) o la regresión de mínimos cuadrados parciales (PLSR). Mostrando ésta última mejores resultados al tener en cuenta la relación entre las variables espectrales y las respuestas o variables independientes. Estos métodos generan un número restringido de variables latentes independientes entre sí a partir de las variables originales. Las aproximaciones cualitativas (de discriminación) mediante espectroscopia eran, hasta hace menos de una década, poco frecuentes (Roussel et al., 2003). En estos casos la variable a predecir es cualitativa, es decir, que toma sus valores de un conjunto discreto, y los métodos factoriales son inadecuados. Roussel et al. (2003) proponen un método de discriminación que resuelve los problemas de dimensionamiento y

correlaciones entre variables procediendo de manera similar a la regresión factorial: se lleva a cabo un PLS (Partial Least Squares) combinado con un análisis discriminante clásico (DA) computado entre los espectros y la pertenencia a una clase (PLS-DA); de igual modo el DA puede aplicarse a los resultados de un análisis de componentes principales (PCA-DA). En cuanto al coeficiente de determinación R^2 la regresión, en el caso de PLSR es generalmente mayor que en el de la PCR, ya que la obtención de las variables latentes tiene en cuenta la relación existente entre las variables originales y las respuestas. Debido a la misma razón, en el caso de discriminación, PLS-DA es generalmente más eficiente que el PCA-DA (Roger et al., 2005).

El presente trabajo tiene como objetivo el desarrollo y puesta a punto de un sistema de visión hiperespectral para la supervisión de la evolución de espinacas mínimamente procesadas a lo largo de su almacenamiento. Mediante técnicas de análisis multivariante se pretende identificar y clasificar los deterioros que se producen a lo largo de la vida útil del producto como degradación de clorofilas y podredumbres incipientes así como posibilitar la categorización de cada muestra en función del área afectada por los mismos.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

En el presente trabajo se presentan dos ensayos realizados con espinacas mínimamente procesadas almacenadas a diferentes temperaturas con el objeto de generar suficiente variabilidad en los estados de deterioro de las muestras. En el primero de los ensayos el material vegetal se mantuvo a 20°C, midiendo el día de recepción de muestras en laboratorio (T0) y transcurridos 2 días de almacenamiento (T2); en adelante nos referiremos a este ensayo como E-20. En el segundo ensayo las medidas se han espaciado a lo largo del periodo de almacenamiento a 12°C (E-12), empezando el día de recepción (T0) y repitiendo la adquisición de imágenes a los 3, 6 y 9 días (T3, T6 y T9 respectivamente). Se han analizado 20 hojas por día de ensayo; en cada fecha se analizan bolsas procedentes de 2 envases diferentes. En la *Figura 1* se presentan las imágenes RGB correspondientes a hojas representativas de los 4 días de medida del ensayo E-12.

El sistema de visión hiperespectral consiste en una cámara de tipo CCD (Andor Luca) equipada con un espectrógrafo Headwall Photonics HyperspecTM VNIR que trabaja en el rango espectral comprendido entre 400 y 1000 nm (*Figura 2*). El espectrógrafo dispone de un sistema de difracción para la separación de los espectros a lo largo de cada línea, así como placas con hendiduras de diferente anchura que se disponen entre la muestra y la óptica para adaptar la resolución espacial de las imágenes (25 μ m, 40 μ m y 60 μ m). La adquisición y el almacenamiento de la imagen se configura en un PC a través de una aplicación informática específica Headwall HyperspecTM. La iluminación es suministrada por dos lámparas halógenas cuya intensidad puede regularse mediante una fuente de alimentación variable. La luz es transmitida a través de un cable de fibra óptica hasta un reflector de luz lineal. La muestra se coloca sobre una plataforma que se desplaza gobernada por un controlador de posicionamiento y movimiento de precisión con motor AC (Micos-MOCO). La muestra se escanea línea a línea según se desplaza y pasa bajo el campo de visión de la cámara (sistema de barrido).

La cámara se ha configurado para obtener una resolución espectral de 3 nm. Las hojas se barren para adquirir la dimensión mayor (dirección del nervio principal) y un ancho de 20 mm. La imagen se adquiere del haz de las hojas. El hipercubo obtenido contiene el espectro de reflectancia relativa de cada píxel al haber sido computado respecto a un blanco de referencia.

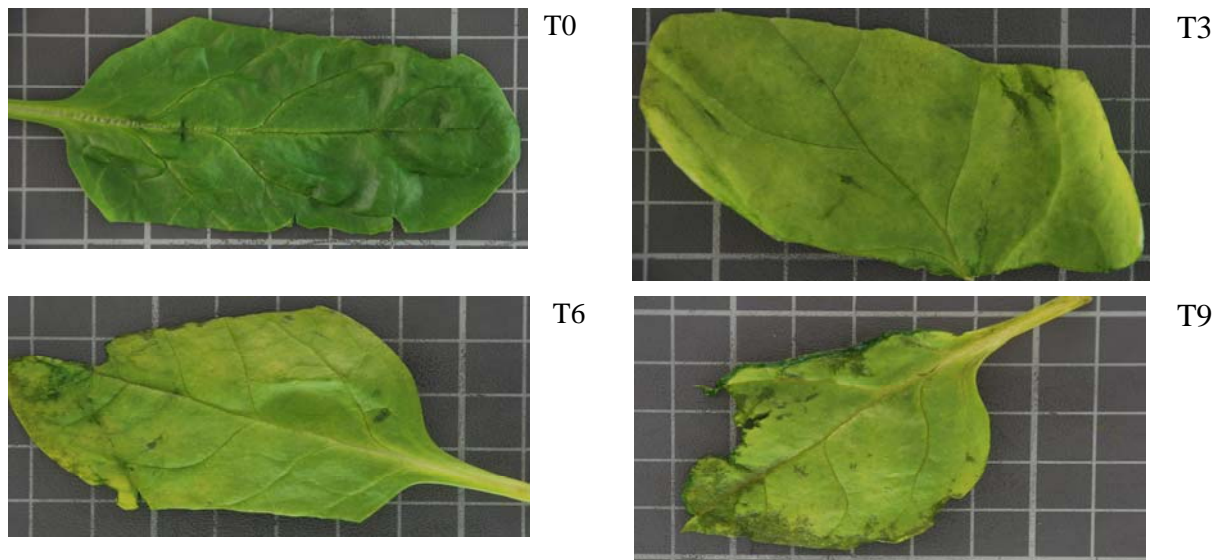


Figura 1. Imágenes RGB correspondientes a hojas representativas del ensayo a 12°C.

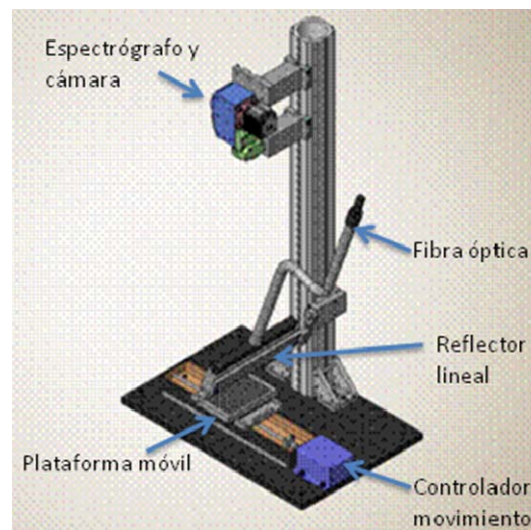


Figura 2. Esquema de los componentes del sistema de visión hiperespectral (Fuente: Manual Headwall Photonics).

Con el objetivo de generar sub-poblaciones de espectros de calibración que contuviesen los estados extremos de calidad, se trabajó sobre las imágenes del ensayo E-20. En las imágenes se han identificado 3 clases de calidad a partir de las cuales se seleccionaron píxeles representativos de las mismas (*Figura 3*): Clase A (calidad óptima, sobre las imágenes tomadas el primer día); Clase B (sobre las imágenes tomadas en los días subsiguientes pero sin síntomas evidentes de podredumbre); Clase C (con podredumbres evidentes, sobre las imágenes tomadas el último día). Finalmente se consideraron los espectros de dichos píxeles para conformar las sub-poblaciones de calibración. La sub-población de calibración estaba constituida por 3600 espectros crudos (1200 por clase) seleccionados mediante la delimitación de pequeñas regiones sobre todas las hojas.

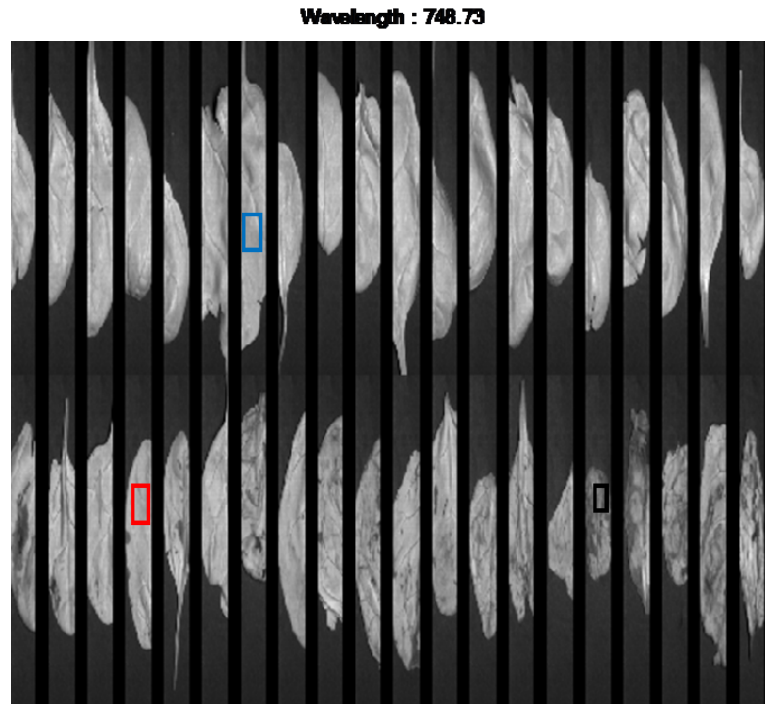


Figura 3. Imagen del plano de longitud de onda 748 nm del ensayo E-20. En la fila superior hojas del T0 y en la inferior hojas del T2. Los polígonos se superponen sobre zonas consideradas para generar las sub-poblaciones de calibración: azul Clase A, rojo Clase B, negro Clase C.

Se ha llevado a cabo un análisis PLS-DA en el set de calibración, para lo que fue necesario usar un sistema de codificación binaria con un bit por clase. Así para la categorización en tres clases, cada individuo fue codificado mediante un triplete de números {A, B, C}, en el que cada número representa un ‘grado de pertenencia’. Por ejemplo, un individuo codificado como {0, 1, 0} pertenece a la clase B. Durante el proceso de calibración, el análisis PLS-DA computa los tres ‘grados de pertenencia’, uno por cada clase y asigna la muestra a aquella clase a la que tiene un mayor ‘grado de pertenencia’, dando lugar a una matriz de clasificación que permite el cómputo del error del modelo. Así mismo el procedimiento genera los vectores, las variables latentes, que permiten la proyección de cualquier individuo anónimo sobre el espacio generado por dichas variables latentes. Para cada individuo se obtienen sus nuevas coordenadas (scores) en dicho espacio. Todos los análisis se han realizado mediante rutinas generadas en Matlab 7.0 (MathWorks)

El modelo obtenido se ha aplicado a la totalidad de los píxeles de la imagen hiperespectral. Se ha validado asignando cada píxel anónimo a la clase para la que se computa su mayor grado de pertenencia según la distancia de Mahalanobis. Para el cómputo de la distancia Mahalanobis se han considerado las nuevas coordenadas (scores) mencionadas antes y los centroides de cada una de las clases.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la *Figura 4* se muestran los espectros de reflectancia medios de cada una de las clases de la sub-población de calibración. Las principales diferencias en el rango visible se observan en la región del verde (520-560 nm), indicando un decaimiento del verde a lo largo del almacenamiento. Sin embargo, es en la región del NIR en la que aparecen las mayores diferencias entre las Clase A y B y la Clase C.

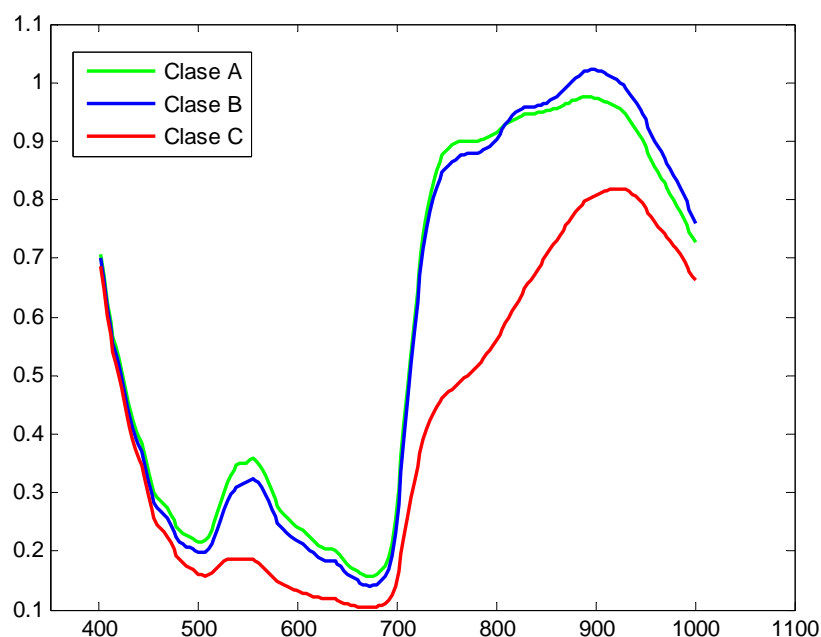


Figura 4. Espectros de reflectancia medios de cada clase de la sub-población de calibración: línea verde Clase A, línea azul Clase B y línea roja Clase C. En el eje x longitudes de onda (nm), en el eje y reflectancia relativa.

La proyección de los individuos de la población de calibración sobre el espacio de dos dimensiones generado con el PLS-DA se muestra en la *Figura 5*. El error de clasificación obtenido fue del 7% (*Tabla 1*).

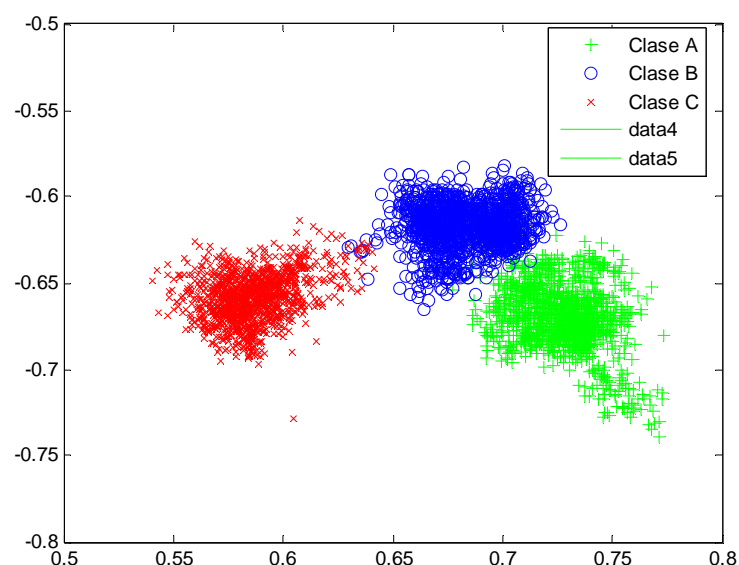


Figura 5. Proyección de la población de calibración en el espacio discriminante generado con el PLS-DA.

	Clase A	Clase B	Clase C
Clase A	1070	107	0
Clase B	130	1091	13
Clase C	0	2	1187

Tabla 1. Matriz de clasificación del PLS-DA sobre la sub-población de calibración.

La Figura 6 muestra la visualización de pertenencia de cada píxel a la clase más próxima para todas las imágenes del ensayo E-20 según la distancia de Mahalanobis: en azul píxeles asignados a la Clase A, en naranja píxeles asignados a la Clase B y en marrón píxeles asignados a la Clase C. La Figura 7 izquierda muestra idéntica representación para el ensayo

E-12. En la columna derecha de la misma figura se incluye la imagen en detalle de dos hojas a modo de ejemplo, para observar la correspondencia entre la asignación de píxeles a las diferentes clases y el estado real de los mismos. Se muestra la imagen del plano correspondiente a 756 nm que potencia la visualización de las regiones afectadas por podredumbres.

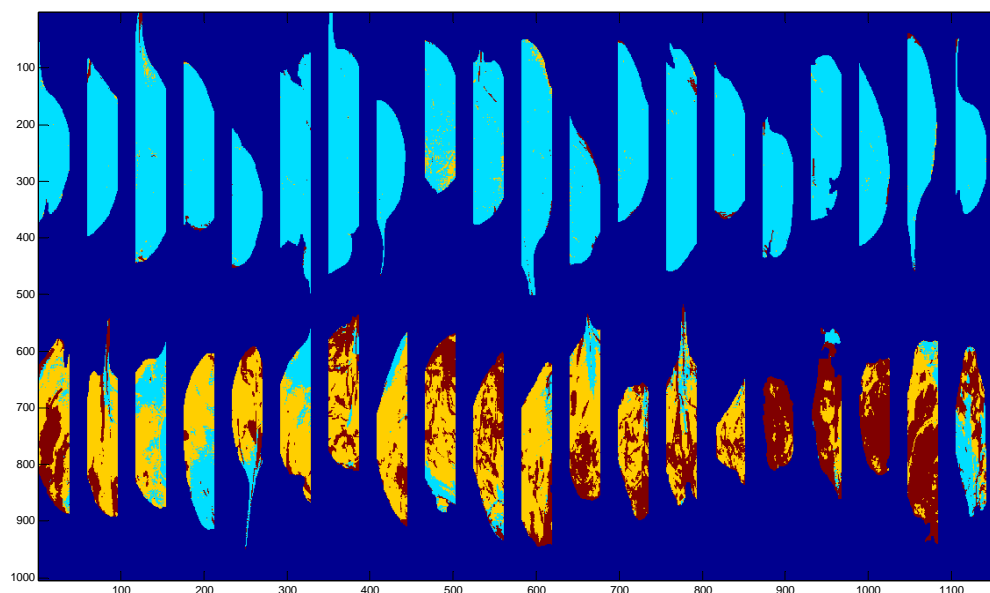


Figura 6. Imagen de la asignación de los píxeles de las imágenes del ensayo E-20 a una de las clases de la sub-población de calibración. La fila superior de imágenes corresponde a T0 y la inferior a T2: píxeles azules asignados a la Clase A, naranjas a la Clase B y marrones a la Clase C.

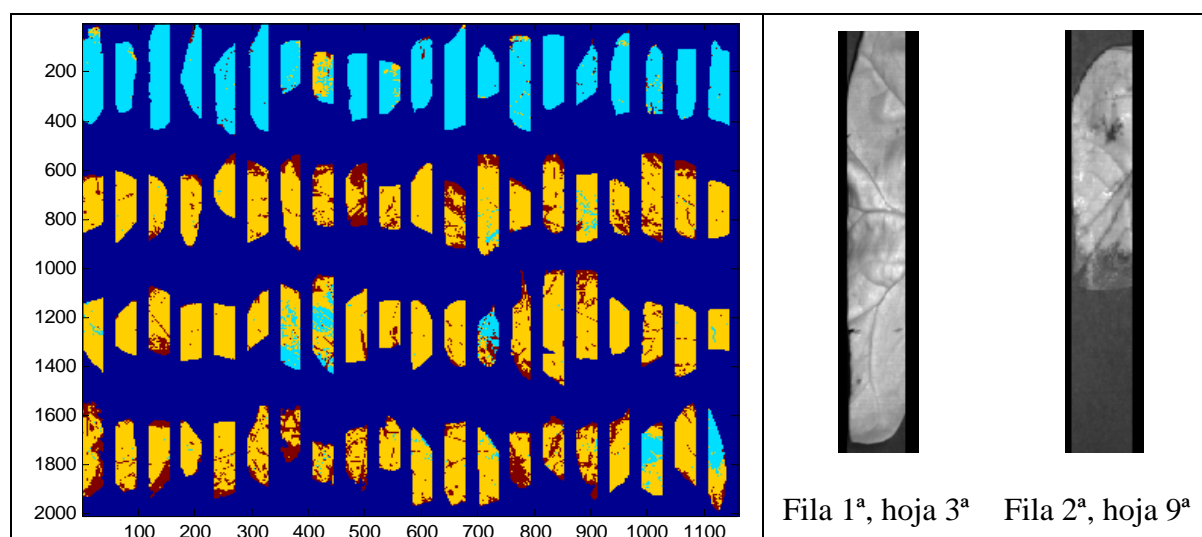


Figura 7. Resultados ensayo E-12. Izquierda: imagen de la asignación de los píxeles de las imágenes a una de las clases de la sub-población de calibración. Las filas de superior a inferior corresponde a imágenes de T0, T3, T6 y T9 respectivamente; píxeles azules asignados a la Clase A, naranjas a la Clase B y marrones a la Clase C. Derecha: imágenes detalladas en el plano 756 nm de la tercera hoja de la primera fila y de la novena hoja de la segunda fila.

4. CONCLUSIONES

En el presente trabajo se ha monitorizado la evolución de espinacas mínimamente procesadas mediante la aplicación de la visión hiperespectral. Así mismo, la implementación de la técnica de análisis multivariante PLS-DA sobre una sub-población de calibración, ha

generado un modelo de clasificación en tres categorías que responden a los principales estados de la evolución seguida por el producto en los ensayos llevados a cabo. El error de la clasificación en la población de calibración ha sido del 7%. La proyección de las imágenes hiperespectrales en el espacio generado y la asignación de cada píxel a una de las categorías definidas en función de dicha proyección, han permitido identificar en las hojas regiones con diferentes estados de evolución. El sistema posibilita dimensionar las áreas de estas regiones y establecer reglas de decisión sobre la calidad de la hoja, lo que otorga al sistema de visión una clara ventaja frente a los métodos espectrofotométricos que analizan una pequeña área de la muestra. En futuras investigaciones se tiene previsto trabajar en la estimación de la vida útil de la muestra en función las regiones definidas en las imágenes.

5. AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen la financiación del presente trabajo al MICINN y a la Universidad Politécnica de Madrid a través de los proyectos MULTIHORT (AGL2008-05666-C02-01/ALI) y DURASFRUT II (AL11-P(I+D)-06) respectivamente.

6. BIBLIOGRAFIA

Abbott J.A., Saftner R.A., Gross K.C., Vinyard B.T., Janick J. (2004) *Consumer evaluation and quality measurement of fresh-cut slices of 'Fuji,' 'Golden Delicious,' 'GoldRush,' and 'Granny Smith' apples. Postharvest Biology and Technology*, 33:127-140.

Aguayo E., Requejo-Jackman C., Stanley R., Woolf A. (2010) *Effects of calcium ascorbate treatments and storage atmosphere on antioxidant activity and quality of fresh-cut apple slices. Postharvest Biology and Technology*, 57:52-60.

Allende A., McEvoy J.L., Luo Y., Artes F., Wang C.Y. (2006) *Effectiveness of two-sided UV-C treatments in inhibiting natural microflora and extending the shelf-life of minimally processed 'Red Oak Leaf' lettuce. Food Microbiology*, 23:241-249.

Artes F., Gomez P., Aguayo E., Escalona V., Artes-Hernandez F. (2009) *Sustainable sanitation techniques for keeping quality and safety of fresh-cut plant commodities. Postharvest Biology and Technology*, 51:287-296. DOI: 10.1016/j.postharvbio.2008.10.003.

Del Nobile M.A., Conte A., Cannarsi M., Sinigaglia M. (2008) *Use of biodegradable films for prolonging the shelf life of minimally processed lettuce. Journal of Food Engineering* 85:317-325.

ElMasry G., Sun D.-W., Professor Da-Wen S. (2010) *Principles of Hyperspectral Imaging Technology, Hyperspectral Imaging for Food Quality Analysis and Control*. Academic Press, San Diego. pp. 3-43.

Escalona V.H., Aguayo E., Martinez-Hernandez G.B., Artes F. (2010) *UV-C doses to reduce pathogen and spoilage bacterial growth in vitro and in baby spinach. Postharvest Biology and Technology* 56:223-231. DOI: 10.1016/j.postharvbio.2010.01.008.

Fan X., Sokorai K.J.B. (2005) *Assessment of radiation sensitivity of fresh-cut vegetables using electrolyte leakage measurement. Postharvest Biology and Technology*, 36:191-197.

Fernandez Pierna J.A., Vermeulen P., Dardenne P., Baeten V. (2010) *Integration of chemometric tools in hyperspectral imaging data: contaminant detection, International Association for Spectral Imaging. IASIM-10, Dublin, Ireland*.

- Gowen A.A., O'Donnell C.P., Cullen P.J., Downey G., Frias J.M. (2007) *Hyperspectral imaging - an emerging process analytical tool for food quality and safety control. Trends in Food Science & Technology*, 18:590-598.
- Rico D., Martín-Diana A.B., Barat J.M., Barry-Ryan C. (2007) *Extending and measuring the quality of fresh-cut fruit and vegetables: a review. Trends in Food Science & Technology*, 18:373-386.
- Roger J.M., Palagos B., Guillaume S., Bellon-Maurel V. (2005) *Discriminating from highly multivariate data by Focal Eigen Function discriminant analysis; application to NIR spectra. Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems* 79:31-41.
- Roussel S., Bellon-Maurel V., Roger J.-M., Grenier P. (2003) *Authenticating white grape must variety with classification models based on aroma sensors, FT-IR and UV spectrometry. Journal of Food Engineering* 60:407-419.
- Siripatrawan U. (2008) *Self-organizing algorithm for classification of packaged fresh vegetable potentially contaminated with foodborne pathogens. Sensors and Actuators B: Chemical* 128:435-441.